

Mario Pavan

Prof. inc. di Entomologia Agraria - Università di Pavia

PRIMI DATI SU UN FATTORE FITOINIBITORE DELLA
GELATINA REALE DI *APIS MELLIFERA* L.
E SUO ISOLAMENTO ALLO STATO CRISTALLINO

La gelatina reale non mi risulta che sia stata prima di ora studiata dal punto di vista della sua eventuale attività fitoinibente. Le mie prime ricerche sono state condotte sulla g. r. diluita in liquido di Shive a varie dosi usando il test di Macht sul *Lupinus albus*.

Le dosi impiegate sono state le seguenti:

gelatina reale	1:	100	in liquido di Shive			
»	»	1: 200	»	»	»	»
»	»	1: 300	»	»	»	»
»	»	1: 500	»	»	»	»
»	»	1: 750	»	»	»	»
»	»	1:1000	»	»	»	»
»	»	1:2000	»	»	»	»

Con le diluizioni da 1:100 a 1:500 si è ottenuta una evidente azione fitoinibitrice fin dal 1° giorno di sviluppo mentre le dosi più diluite non hanno provocato azione fitoinibente.

Questi esperimenti hanno messo dunque in evidenza l'esistenza di un fattore fitoinibitore idrosolubile nella g. r. e da questo punto sono partito con la ricerca chimica per l'isolamento del principio attivo.

Nello schema allegato riproduco il quadro delle operazioni condotte fino all'isolamento del fattore fitoinibitore.

Si deve avvertire che un passaggio del procedimento di purificazione presenta anomalie di solubilità in acqua difficilmente spiega-

bili ma le operazioni ripetutamente condotte su lotti differenti hanno sempre permesso di isolare il fattore fitoinibitore.

Con la metodica impiegata, ancora primitiva e certamente perfezionabile, il fattore inibitore risultò in proporzione di 1:250 rispetto alla quantità iniziale di gelatina reale, cioè in quantità piuttosto bassa.

Il fattore fitoinibitore ha le seguenti proprietà: solubile in acqua, etere, benzolo, metil-etil-chetone; insolubile in tetracloruro di carbonio. Resiste al calore fino a 120°C per 10 minuti senza perdere attività. Il punto di fusione presenta una caratteristica particolare e cioè a seconda della forma di cristallizzazione è di 42°-45°C oppure di 52°-57°C. Questo doppio ambito del punto di fusione è stato ripetutamente verificato sullo stesso campione lasciato ricristallizzare dopo la fusione.

L'attività fitoinibente è debole rispetto a molti noti fitoinibitori.

La sostanza non ha attività insetticida per contatto (prove preliminari su giovani di *Acheta domestica*), nè ha attività antibatterica (prove preliminari su: *Bacterium coli*, *Eberthella typhosa*, *Salmonella paratyphi* A, *Salmonella paratyphi* B, *Bacillus anthracis*, *Staphylococcus aureus*, *Mycobacterium phlei*, *Mycobacterium avium*, *Mycobacterium Minetti*).

In quanto all'origine, non si può per ora affermare se la sostanza deriva da un secreto delle glandole dell'ape operaia oppure se è un elemento presente nel polline di cui in parte è formata la gelatina reale; pertanto non si può dire se la sua origine sia animale o vegetale. Ulteriori ricerche sui pollini sono in programma.

Così pure sono in programma ricerche farmacologiche, tossicologiche, ed indagini biologiche varie, nonchè ricerche chimiche approfondite sulla costituzione della sostanza.

Per concludere rileverò che questa ricerca costituisce il primo caso concreto e dimostrato di una ben determinata proprietà biologica della gelatina reale.

Non tratto in questa nota delle proprietà biologiche e caratteristiche chimiche della gelatina reale, in quanto per una informazione generale dell'argomento posso rinviare a una mia nota in collaborazione con Brangi (1954) e ad un lavoro più ampio degli Assistenti Dr. A. Fargion e Dr. G. Ronchetti (1958) ora in stampa.

Ringrazio gli Assistenti e Collaboratori Dr. A. Baggini, Dr. G. Ronchetti e Dr. M. L. Valcurone per l'aiuto datomi nello svolgimento della parte tecnica di queste ricerche.

Schema di procedimento per l'isolamento del fattore fitoinibitore della gelatina reale

- 1) *G. r.* fresca in benzolo. Estrazione in benzolo 1:5; estrazione due volte per 24 ore.
↓
 - 2) Concentrazione a 35°-40° C: residui cristallini (con attività fitoinibente su *Lupinus albus*).
↓
 - 3) Lavaggio con tetracloruro di carbonio (10 cc) per 20'.
↓
 - 4) Insoluto: cristalli p. f. 50°-52° C (*fitoinibente su L. a.*).
↓
 - 5) Lavaggio con agitazione in H₂O dist. (cc 8,8) per 1 h a 35° C, raffreddamento a 17° C, filtrazione su carta.
↓
 - 6) Insoluto (*fitoinibente su L. a.*)
↓
 - 7) Ripreso con benz. 15 cc, filtrato, evaporato a 40° C; massa cristallina bianca con 3 tipi di cristallizzazione:
1) lamine p. f. 33°-37° C; 2) rare masserelle dure p. f. 45°-51° C;
3) grandi masse tonde di microcristalli p. f. 37°-41° C.
↓
 - 8) Ripresa con metil-etil-chetone 8 cc.
↓
 - 9) Soluti (*fitoinibente su L. a.*): evaporazione immediata a 20° C: cristalli acicul. raggiati p. f. 41°-49° C. Per riposo 4 giorni scioppo con cristalli p. f. 55°-57,5° C o 42°-45° C secondo la forma di cristallizzazione.
↓
 - 10) Purificazione dello scioppo giallastro su cartina da sigaretta o piatto poroso. Separazione cristalli bianchi aventi p. f. 42°-45° C o 52°-57° C secondo la forma di cristallizzazione e ricristallizzazione di uno stesso campione.
↓
- ↓
- 3a) soluzione in tetr. di carbonio.
- 3b) evap.: cristalli p. f. 35°-40° C (*in soluz. H₂O inattivi su L. a.*).
- 5a) soluz. acquosa (*inattiva su L. a.*).
- 5b) microevaporaz. al binoculare: cristalli p. f. 38°-48° C.
- 8a) insoluto, ripresa con etere et., evaporazione: cristalli p. f. 37°-40° C (*inattivi su L. a.*).

BIBLIOGRAFIA

- (1) BRANGI G. P., PAVAN M., 1954 - Sulle proprietà antibatteriche del miele, propoli, pappa reale e veleno di *Apis mellifera* L. (*Hym. Apidae*). Mem. Soc. Ent. It. 33: 19-32.
- (2) RONCHETTI G., FARGION A., 1958. - La gelatina reale di *Apis mellifera* L., sua costituzione e proprietà biologiche. Atti Soc. It. Sc. Nat. (in stampa).